

Immunglobulin- und Totalproteinkonzentrationen im Vollspeichel gesunder Kinder

Siegfried Dörfler

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552314_0065

Aus der
Kinderklinik der Universität München
im

Dr. von Hauner'schen Kinderspital

Direktor: Prof. Dr. K. Betke

Immunglobulin- und Totalproteinkonzentrationen
im Vollspeichel gesunder Kinder

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Siegfried Dörfler
aus
Wasserburg am Inn

1978

1. Referent: Prof. Dr. K. -D. Tympner

2. Referent: Prof. Dr. K. Betke

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 12. 1978



INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Literaturübersicht</u>	3
1. Gesamteiweiß	3
2. Albumin	4
3. Sekretorisches Ig A	7
3.1. Chemische Eigenschaften und Aufbau	7
3.2. Secretory component	7
3.3. J chain	7
3.4. Herkunft des sekretorischen Ig A	8
3.5. Ig A - Konzentration im Speichel	10
4. Immunglobulin G	11
5. Immunglobulin M	12
III. <u>Methodik</u>	15
1. Auswahl der Probanden	15
2. Probengewinnung und -Aufbewahrung	16
3. Bestimmungsmethoden	17
3.1. Gesamteiweißkonzentration	18
3.2. Albumin- und Immunglobulin- konzentration	18
3.3. Meßgenauigkeit	20

4.	Fehlermöglichkeiten	21
4.1.	Methodische Fehler	21
4.1.1.	Auswahl der Probanden	21
4.1.2.	Tageszeitliche Schwankungen der Proteinkonzentration	21
4.1.3.	Stimulation	22
4.1.4.	Schleimbestandteile	24
4.1.5.	Aufbewahrungstemperatur	24
4.1.6.	Zahntaschenflüssigkeit	25
4.2.	Fehler bei der Bestimmung der Proteinkonzentrationen	25
IV.	<u>Eigene Ergebnisse</u>	26
1.	Gesamteiweißkonzentration	27
2.	Albumin	28
3.	11S - Ig A	29
4.	Immunglobulin G	31
5.	Immunglobulin M	31
6.	Gesamt-Immunglobulin- konzentration	32
7.	Prozentuale Aufteilung der Immunglobuline	32
8.	Prozentuale Aufteilung der Speichelproteine	33
V.	<u>Diskussion</u>	37
VI.	<u>Zusammenfassung</u>	39
VII.	<u>Literaturverzeichnis</u>	42

I. Einleitung

A. BESREDKA postulierte schon 1919 (1) aufgrund seiner klinischen Erfahrung, daß es eine lokale, von der systemischen unabhängige, Immunabwehr geben müsse. Erst sehr viel später wurde dies aufgegriffen und durch lokale Immunisierungsversuche festgestellt, daß die Antikörper-Konzentrationen in den Sekreten besser mit der Infektoresistenz korrelieren als mit den entsprechenden Konzentrationen im Blut (17).

Dies ist wohl einer der Gründe, warum DENNIG (13) die Anwendung von Kaugummi zur Prophylaxe der häufigen aufsteigenden Parotitiden bei schwerkranken Patienten empfiehlt. Dabei dürfte allerdings auch ein Spüleffekt von Bedeutung sein.

Schließlich wissen wir aus der Tierbeobachtung, daß viele Tierarten instinktiv ihre Wunden belecken und so Abwehrstoffe auf die offenen Stellen bringen.

In den letzten zehn Jahren wurde viel über die lokale Infektabwehr geforscht. Der Abschnitt II dieser Arbeit soll einen kurzen Abriß der bisherigen Ergebnisse bringen. Die Abschnitte III bis VI beschäftigen sich mit der speziellen Fragestellung "Altersentwicklung der Immunglobulin- und Totalproteinkonzentrationen im Gesamtspeichel des gesunden Menschen".

Dabei gehört der Speichel zu den "external secretions" (54), die sich durch ein Überwiegen des Immunglobulin A auszeichnen. Weitere "external secretions" sind: Tränenflüssigkeit, Nasal-, Tracheobronchial-, Intestinal-, Gallen- und Zervikalsekret, sowie der Urin.

Daneben gibt es die "internal secretions" mit einem hohen Anteil an Immunglobulin G (wie im Blutplasma): Kammerwasser des Auges, Liquor cerebrospinalis, Synovial-, Amnions-, Pleura-, Peritoneal- und Gingival- (= Zahntaschen-) Flüssigkeit.

II. Literaturübersicht

1. Gesamteiweiß

Der Konzentration des Gesamteiweiß im Speichel wurde nie recht Aufmerksamkeit geschenkt. So findet man kaum Literaturstellen, die sich mit seiner altersabhängigen Entwicklung beschäftigen.

Lediglich SCHMIDT und Mitarbeiter (43) gaben Werte für verschiedene Altersklassen an (Tab. 1). Aus ihren Ergebnissen leiten sie eine Korrelation zwischen dem Logarithmus des Alters in Jahren und der Eiweißkonzentration ab. Außerdem geben sie eine direkte Proportionalität zwischen Serum- und Speichelproteinkonzentration an.

0,2 bis 0,5 Jahre	3 bis 7 Jahre	7 bis 13 Jahre
13/21 *) 30 - 60 6/21 < 30 2/21 60 - 90	15/21 60 - 90 2/21 < 60 4/21 90 - 180	20/21 90 / 120 11/21 30 - 90 bzw. 120 - 180
*) 13/21 = 13 von 21 untersuchten Proben		

Tab. 1: Gesamteiweißkonzentration im stimulierten Vollspeichel bei verschiedenen Altersgruppen nach SCHMIDT und Mitarbeiter (43)
(Angaben in mg/100 ml)

Die von verschiedenen Autoren bestimmten Werte im ErwachsenenSpeichel sowie Angaben zur jeweiligen Methodik finden sich in Tab. 2. Die Unterschiede in den Konzentrationsangaben bei den zitierten Arbeiten sind methodisch zu erklären (46, 60).

Autor	Material	Stimulation	Werte in mg/100 ml
Burger-Girard (8)	Vollspeichel	+	10 - 20
Schmidt (43)	Vollspeichel	+	30 - 180
Eichner (14)	Parotissekret	+	20 - 100
Eichner (15)	Parotissekret	-	50 - 750
Eichner	Parotissekret	+	kleinere Werte
Nakajima (34)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 135$ $s = 14$
Simons (47)	Parotissekret	()	etwa 1.000

Tab. 2: Gesamteiweißkonzentration bei Erwachsenen
(Angaben in mg/100 ml s = Standardabweichung)

2. Albumin

Ähnlich wie beim Gesamteiweiß gibt es auch für das Albumin kaum Angaben über die Altersentwicklung seiner Konzentration im Speichel.

Zwischen dem 20. und dem 80. Lebensjahr findet keine signifikante Änderung statt (32).

Tabelle 3 gibt Auskunft über die Ergebnisse verschiedener Autoren zur Frage der Albuminkonzentration.

Autor	Material	Stimulation	Werte in mg/100 ml
Burger-Girard (8)	Vollspeichel	+	7 - 14 % d. Ges.-Proteins
Nakajima (34)	Vollspeichel	+	2 - 15
Mandel (30)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 0,3$ s = 0,2
Meyer (33)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 0,4$ s = 0,3
Nakajima (34)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 0,2$ s = 0,1
Zengo (61)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 0,6$ s = 0,2

Tab. 3: Albuminkonzentration im Speichel von Erwachsenen
(Angaben in mg/100 ml s = Standardabweichung)

Darüber hinaus berichteten SELNER und Mitarbeiter (45), daß Albumin bei Neugeborenen und Säuglingen nur zwischen dem ersten und dem neunten Lebenstag nachweisbar sei, wobei sie annahmen, daß in dieser kurzen Zeit die Permeabilität der Speicheldrüsenmembranen für Serumalbumin besonders groß sei.

HURLIMANN und Mitarbeiter (23) bestätigten durch ihre Arbeiten mit C^{14} -markierten Aminosäuren, daß Transsudation die Anwesenheit von Albumin im Speichel erklären müsse, da eine Synthese im Drüsengewebe der Gl. submandibularis und Gl. parotis - in vitro - nicht stattfindet.

Dafür spricht auch die Tatsache, daß die elektrophoretischen Eigenschaften von Serum- und Speichelalbumin identisch sind, worauf schon BURGER-GIRARD (8) hinwies.

Untersuchungen der Gingivalflüssigkeit durch OPPENHEIM (38) ergaben einen viel höheren Gehalt an Albumin als bei den übrigen Speicheldrüsen, woraus der Autor schloß, daß diese Zahntaschenflüssigkeit die Hauptquelle des oralen Albumins sei. Allerdings bleibt die Frage nach seiner Herkunft letztlich immer noch offen.

3. Sekretorisches Ig A

Ausführliche Übersicht bei TOMASI (54).

3.1. Chemische Eigenschaften und Aufbau

Die Hauptmenge des sekretorischen Ig A besitzt einen Sedimentations-Koeffizienten von 11 S und ein Molekulargewicht von etwa 390.000. Zehn bis 20 % des Ig A bestehen aus Dimeren und Trimeren des 11S - Ig A - Moleküls. Bei weiteren 10 % handelt es sich um 7S. Zwei 7S-Monomere bilden zusammen mit einer "secretory component" und einer "J chain" das sekretorische 11S - Ig A. Das 7S - Ig A - Molekül besteht aus zwei leichten (L-) Ketten (Molekulargewicht 22.500) und zwei schweren (H-) Ketten (Molekulargewicht 55.000).

3.2. Secretory component (SC, "piece")

Es handelt sich um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 60.000 bei einem Kohlehydratanteil von 6 %. Es ist durch Disulfid-Brücken an die schweren Ketten des Ig A - Moleküls gebunden.

Als Bildungsort für die SC werden die Epithelzellen der Speicheldrüsen angenommen (35, 54), wobei auch die Beobachtung, daß bei Agammaglobulinämie-Patienten und Neugeborenen, die noch kein sekretorisches Ig A besitzen, SC nachweisbar ist (42, 48, 57), dafür spricht, daß es in anderen Zellen gebildet wird als das Ig A - Molekül. Nach BIENENSTOCK und Mitarbeitern (2) sowie BRANDTZAEG und Mitarbeitern (4) kommt SC nur im Ig A - Molekül vor, nicht aber bei Ig G und M.

Neuere Untersuchungen (35, 59) ergaben allerdings, daß jeweils ein Molekül SC auf ein Dimer Ig A bzw. ein Pentamer Ig M kommt. Das wird von verschiedenen Autoren (6, 25, 26, 27) bestätigt mit dem Hinweis, daß auch monomeres Ig A keine Bindung mit SC eingeht.

Die Funktion der SC besteht darin, daß sie den Immunglobulinen A und M eine größere Widerstandskraft gegenüber proteolytischen Enzymen verleiht (24).

3.3. J chain

Bei der J chain (J steht für "joining") handelt es sich um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 23.000 (20). Es enthält ca. 10 % Kohlehydrate und kommt

vor beim sekretorischen Ig A, beim Ig M, sowie beim dimeren Serum-Ig A (31), so daß man annimmt, es handle sich um ein Charakteristikum polymerer Immunglobuline. Als Ursprungsort werden die Plasmazellen angenommen (54). Seine Funktion wird beschrieben als Bindungsvermittler zwischen 11S - Ig A - Molekül (54) bzw. Ig M - Molekül (16) und der SC. Eine Bedeutung für die Polymerisation dieser Moleküle wird verneint.

3.4. Herkunft des sekretorischen Ig A

Basierend auf Untersuchungen mit fluoreszierenden Antikörpern (41, 56) und auf in vitro - Experimenten mit Gewebekulturen, wobei der C^{14} -Aminosäuren-Einbau in das sekretorische Ig A gemessen wurde (22, 52), hält TOMASI (54) die lokale Synthese des sekretorischen Ig A für sehr wahrscheinlich.

Seiner Meinung nach produzieren die in der Nähe der Drüsenausführungsgänge liegenden Plasmazellen Ig A - Monomere (7S), Ig A - Dimere (10S) und J chain.

Nach seiner Freisetzung gelangt das Ig A in das Interstitium zwischen den Epithelzellen, wird in diese aufgenommen und mit der hier gebildeten SC verbunden.

Die Bedeutung der J chain für diesen Sekretionsmodus, der prinzipiell für alle "external secretions" gelten soll, wurde bereits erwähnt (siehe Punkt II.3.3.).

Auch die Beobachtung von SCHLIMOK (42), SOUTH und Mitarbeitern (49), sowie TYMPNER und Mitarbeitern (57), daß bei Patienten mit Agammaglobulinämie zwar SC aber kein Ig A im Speichel zu finden sei, stützt die Annahme von TOMASI.

Ein weiterer Hinweis auf eine lokale Synthese stammt von HAWORTH und Mitarbeitern (21): Trotz hoher Serum-Ig A - Spiegel nach Austauschtransfusionen zeigte sich bei Neugeborenen vor dem achten Lebenstag kein Ig A im Speichel.

TYMPNER und Mitarbeiter (57) wiesen bei einem fast erwachsenen Patienten mit Agammaglobulinämie Typ BRUTON nach, daß bei parenteraler Gabe von Gammaglobulinen 7S - Ig A vermehrt im Speichel erscheint. Eine Zunahme von 11S - Ig A konnte dagegen nicht beobachtet werden. Die Autoren verweisen dabei auf eine Arbeit von BIENENSTOCK und Mitarbeitern (3), in der ein selektiver Transport von Serum-Ig A in die externen Sekrete beschrieben wird. Neuere Untersuchungen von CRAWFORD und Mitarbeitern (10) ergeben, daß es neben dem Sekret der drei großen Drüsen und der Zahntaschenflüssigkeit noch ein Sekret in der Mundhöhle gibt, das der "minor salivary glands". Dieses enthält eine vierfach höhere Konzentration an 11S - Ig A als das isolierte Parotissekret. Daraus und aus der Tatsache, daß es etwa 7 bis 8 % des gesamten Speichelvolumens ausmacht, berechneten die Autoren, daß etwa 30 bis 35 % des lokalen Ig A aus diesen "minor salivary glands" stammen müsse.

3.5. Ig A - Konzentration im Speichel

Die von verschiedenen Autoren im Speichel von Kindern und Säuglingen gefundenen Werte sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Autor Material	Alter	Werte
Haworth (21) Vollspeichel	< 2 Jahre	$\bar{x}$ = 6,0 s = 3,7
	2 - 4 Jahre	$\bar{x}$ = 7,0 s = 4,7
	5 - 14 Jahre	$\bar{x}$ = 6,0 s = 3,1
South (50) stimul. Parotissekret	< 2 Monate	0
	2 - 8 Monate	0,55 - 0,77
	3 - 4 Jahre	$\bar{x}$ = 0,63
	5 - 9 Jahre	$\bar{x}$ = 0,61
	10 - 14 Jahre	$\bar{x}$ = 0,54
	> 15 Jahre	$\bar{x}$ = 0,77

Tab. 4: Ig A - Konzentration im Speichel von Kindern und Säuglingen
(Angaben in mg/100 ml)
($\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung)

Dabei fällt auf, daß der Vollspeichel eine wesentlich höhere Konzentration besitzt als das stimulierte Parotissekret. Es wurde auch berichtet, daß der Säugling vor dem zehnten Lebenstag kein Ig A in seinen oralen Sekreten aufweist (21, 45, 50). Tabelle 5 zeigt die Ig A - Konzentration beim Erwachsenen.

Autor	Material	Stimulation	Werte
Claman (9)	Parotissekret	+	2,8 - 15,0
Crawford (10)	Parotissekret	+	3,5 - 9,4
Eichner (15)	Parotissekret	-	3,0 - 30,0
Eichner	Parotissekret	+	höhere Werte
Nakajima (34)	Parotissekret	+	$\bar{x} = 8,2$ $s = 4,8$
Tomasi (53)	Parotissekret	+	5,0 - 15,0

Tab. 5: Ig A - Konzentration im Speichel von Erwachsenen
(Angaben in mg/100 ml)
($\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung)

4. Immunglobulin G

Das Ig G hat ein Molekulargewicht von 156 - 161.000 (39). Es besteht aus vier Polypeptidketten: zwei leichten (L-) und zwei schweren (H-) Ketten, wobei jede von ihnen einen konstanten und einen variablen Anteil enthält. Letzterer ist für die Antigenbindung mitverantwortlich. Die vier Untereinheiten des Moleküls werden durch Disulfid-Brücken und von der WAALSCHEN Kräfte zusammengehalten.

Immunglobulin G, das im Speichel gefunden wird, stammt wahrscheinlich nicht aus Plasmazellen der Speicheldrüsen, sondern aus dem Serum. Versuche mit fluoreszierenden Antikörpern gegen 7S - Ig G (52) ergaben nämlich - bei der Parotis - keine Anfärbung irgendwelcher Zellen. Bei dem geringen Molekulargewicht ist die Transsudation in die Drüsensekrete gut möglich.

Beim gesunden Feten und Neugeborenen ist Ig G das einzige im Blut nachweisbare Immunglobulin, da die menschliche Plazenta nur für dieses durchlässig ist (44).

So ist es auch verständlich, daß im Speichel von Neugeborenen Ig G vorhanden ist und zwar in relativ höherer Konzentration als im späteren Leben. SELNER und Mitarbeiter (45) sowie NAKAJIMA und Mitarbeiter (34) erklären das mit einer größeren Permeabilität der Speicheldrüsenmembranen in den ersten Lebenstagen.

Verschiedene Autoren (9, 10) wiesen außerdem darauf hin, daß im Parotissekret von Erwachsenen Ig G nicht oder in nicht nennenswerten Mengen vorhanden sei (Problem des Meßbereiches der angewendeten Methoden).

Andererseits wurde auch beschrieben, daß bei Patienten ohne Ig A im Serum und im Speichel die Immunglobuline G und M in den oralen Sekreten erhöht seien (4, 9, 42, 48, 51, 57).

Auch in dem an Ig A so reichen Sekret der "minor salivary glands" war Ig G nur in zwei von vier Fällen nachzuweisen (10). In der Zahntaschenflüssigkeit kommt Ig G in sehr hoher Konzentration vor (38).

5. Immunglobulin M

Ig M besteht aus SC, J chain und fünf Untereinheiten, die jeweils aus zwei leichten (L-) und zwei schweren (H-) Ketten aufgebaut sind (54).

Wie bei allen Immunglobulinen sind auch hier die variablen Kettenanteile für die Antigenbindung verantwortlich.

Dieses Ig M - Pentamer hat ein Molekulargewicht von 1.000.000.

BRANDTZAEG nahm bereits 1968 eine lokale Synthese auch für dieses Immunglobulin an (4). Er stützte sich dabei auf die Beobachtung, daß Patienten ohne Ig A im Serum und im Speichel erhöhte Mengen von Ig M und G im Parotissekret aufwiesen, was auch andere Autoren (9, 49, 52) schon mitgeteilt hatten. Während er für das Ig G eine Erhöhung der Permeabilität der Speicheldrüsenmembran als möglich erachtete, befriedigte ihn diese Erklärung für das Ig M nicht, da diesem durch sein hohes Molekulargewicht eine Transsudation nicht möglich sein sollte.

An zwei gesunden Probanden untersuchte BRANDTZAEG den Vollspeichel auch quantitativ auf Ig M (4). Er fand dabei Werte von 0,21 bzw. 0,76 mg/100 ml.

Die Tatsachen, daß Ig M, im Gegensatz zum Ig G, eine Bindung mit der SC eingeht (7, 26, 51, 54, 59) und auch eine J chain pro Pentamer besitzt (16, 20, 31, 54, 55), veranlaßten BRANDTZAEG dazu, das Ig M als ein echtes sekretorisches Immunglobulin zu bezeichnen. (7).

Der gesunde Mensch allerdings scheint kein Ig M in seinen Parotisspeichel zu sezernieren (9, 10). Ob das damit zu erklären ist, daß das Ig M wie im Serum als schnell reagierendes Immunglobulin (58) aufzufassen ist, bleibt offen.

III. Methodik

1. Auswahl der Probanden

Es wurden von 58 Neugeborenen, Säuglingen, Klein- und Schulkindern Proben gewonnen, wobei das Jüngste 15 Stunden, das Älteste knapp 13 Jahre alt war. Als Ausschlußkriterien galten Erkrankungen der oberen Atmungs- und Verdauungsorgane.

Sonstige Erkrankungen der Kinder siehe Tabelle 6.

Enteritis	6 mal
Mißbildungen	4 mal
rezidivierendes Erbrechen	3 mal
Herzfehler	2 mal
Coeliakie	2 mal
zerebrale Anfälle	2 mal
Fraktur	1 mal
Abdominaltumor	1 mal

Tab. 6: Diagnosen der Kinder

Die zwölf Neugeborenen waren gesund, bei den restlichen 25 Kindern war die Diagnostik zum Zeitpunkt der Untersuchungen noch nicht abgeschlossen.

Altersverteilung der Probanden und Stärke der Gruppen sind der Tabelle 7 zu entnehmen.

Gruppe	I.	bis 7 Tage	n = 12
Gruppe	II.	bis 2 Monate	n = 8
Gruppe	III.	bis 6 Monate	n = 15
Gruppe	IV.	bis 12 Monate	n = 10
Gruppe	V.	bis 13 Jahre	n = 13
Gruppe	VI.	20 bis 35 Jahre	n = 18

Tab. 7: Aufteilung in Altersgruppen

Als Vergleichsgruppe - bezeichnet mit VI. - dienten 18 Erwachsene, die die gleichen Kriterien bezüglich Krankheiten des Respirations- und Verdauungstraktes zu erfüllen hatten wie die Kinder. Das Alter lag zwischen 20 und 35 Jahren.

2. Probengewinnung und -Aufbewahrung

Zur Gewinnung einer Speichelprobe wurde, modifiziert nach HAWORTH und Mitarbeitern (21), ein mit Verbandmull umwickelter Wattebausch in den Mund des Kindes eingebracht und, nachdem er sich vollgesaugt hatte, mit einer Recordspritze ausgepreßt. Das so gewonnene Sekret wurde sofort bei -20°C tiefgefroren.

Vorteile dieser Sammelmethode gegenüber anderen Vorrichtungen, wie z. B. CURBY-cup (11) sind in der Tabelle 8 zusammengefaßt.

Gewinnung von Speichel in annähernd natürlicher
Zusammensetzung ("Nativspeichel")

Geringere Gefahr kleinster Schleimhautverletzungen
mit Übertritt von Serumproteinen, vor allem Ig G

kein apperativer Aufwand

keine starke Belästigung der Kinder

Tab. 8: Vorteile der Sammelmethode

Eventuelle Schleimbeimengungen wurden, wenn sie nicht
allzu groß waren, in Kauf genommen.

Die Menge des so erhaltenen Speichels betrug, abhängig
von Sekretionsrate und Sammeldauer, zwischen 0,5 ml
bei den Säuglingen und mehreren ml bei den Erwachsenen.
Zur Stimulierung dienten geringe Mengen Ascorbinsäure
in Form von Cebion^R.

3. Bestimmungsmethoden

Vor Durchführung der Bestimmungen wurde der Speichel
nach dem Auftauen weder zentrifugiert noch konzen-
triert. Wegen der engen Meßbereiche der LC-PARTIGEN-
Platten, BEHRINGWERKE Marburg (siehe Seite 19) wurden
gelegentlich Verdünnungsschritte notwendig (LC = low
concentration).

3.1. Gesamteiweißkonzentration

Modifiziert nach MEYER und Mitarbeitern (32), basierend auf FÜHR und Mitarbeitern (19).

Prinzip:

Einbringen von 0,1 oder 0,05 ml Speichel in 1 ml Aqua bidest.; Ausfällung der Proteine mit 5 ml Amidoschwarzlösung 10 B (Merck); 20 min Inkubation; Abzentrifugieren (10 min bei 3.500 U/min) des angefärbten Eiweißniederschlags und Dekantieren des Überstandes; mehrmaliges Auswaschen des überschüssigen Farbstoffes mit einem Gemisch aus einem Teil Eisessig (= Essigsäure 96 %) und neun Teilen Methanol bis Überstand farblos; Lösen des Eiweißniederschlags in 5 ml 0,1 n Natronlauge und Messung der Extinktion.

Als Filter wurde entgegen MEYER die Wellenlänge 578 Mikrometer benützt. Neuer Berechnungsfaktor nach SCHLIMOK (42): 266.

Berechnung: (bei 0,1 ml eingesetzter Speichelmenge):

Eiweißkonzentration in mg/100 ml

= Extinktion x 266.

Als Kontrolllösung wurde das Präparat Standard Human Serum^R der BEHRINGWERKE, Marburg, verwendet.

3.2. Albumin- und Immunglobulinkonzentrationen

Radiale Immundiffusion (RID) nach MANCINI und Mitarbeitern (28).

Prinzip:

In einen antigenhaltigen Agar sind Löcher gestanzt; in diese füllt man die Proben ein und liest nach 48 - 72 Std. den Durchmesser der Präzipitatringe ab. Mit drei Standardlösungen bekannter Konzentration erstellt man eine Eichkurve, wobei das Quadrat des Durchmessers proportional zur eingesetzten Konzentration ist. An dieser Eichkurve kann man die Konzentration der anderen, auf der Platte befindlichen Proben ablesen.

Zur Verwendung kamen Standardlösungen und LC-PARTIGEN-Platten^R der BEHRINGWERKE.

Meßbereiche der LC-PARTIGEN-Platten^R:

Albumin: 2,8 - 44,4 mg/100 ml

Ig A, G, M: 1,0 - 10,0 mg/100 ml

Später wurde umgestellt auf:

Ig A, G: 0,8 - 13,3 mg/100 ml

Ig M: 1,1 - 17,8 mg/100 ml

Die eingesetzte Speichelmenge betrug 0,02 ml. Das Einfüllen in die Löcher geschah mit Hilfe des PARTIGEN-DISPENSERS^R der Firma BEHRING. Zur besseren Ablesung der Präzipitatzdurchmesser war es fast immer notwendig, die Agarplatten 24 Std. lang mit phosphatgepufferter

physiologischer Kochsalzlösung, pH 7,2, auszuwaschen, anschließend 20 min mit Tanninsäure zu behandeln und wieder längere Zeit mit Aqua bidest. zu wässern. Dabei ließ die Schärfe der Präzipitatringe aber immer noch zu wünschen übrig. Diesem Mangel wurde in letzter Zeit von seiten der BEHRINGWERKE durch Verwendung einer anderen Agarose Abhilfe geschaffen.

Auf den Nachweis, daß es sich bei dem gemessenen Ig A um sekretorisches 11S - Ig A handelte, wurde verzichtet, da SCHLIMOK (42) diesen in früheren Versuchen erbracht hatte, und zwar mit der Doppeldiffusions-Technik nach OUCHTERLONY (36, 37). Außerdem hat TOMASI (54) darauf hingewiesen, daß nur etwa 10 % des Ig A im Parotispeichel aus 7S - Ig A bestehen, das entweder als solches sezerniert wird, oder aus dem Serum stammt. Zur Erstellung der Eichkurve für das Ig A wurde eine von SCHLIMOK gereinigte Präparation von 11S - Ig A als Standardlösung verwendet.

3.3. Meßgenauigkeit

Zur Feststellung der Genauigkeit der genannten Methoden wurde durch Mehrfachbestimmung (Anzahl = n) von Kontrolllösungen bekannter Konzentration der Variationskoeffizient ermittelt (Tabelle 9).

Bestimmungsmethode	n	VK %	
Gesamteiweiß (Amidoschwarz)	11	4,3	
Albumin (RID)	4	6,6	*)
11S - Ig A (RID)	11	5,4	
Ig G (RID)	8	2,4	
Ig M (RID)	7	4,1	

Tab. 9: Variationskoeffizient (VK %) der verschiedenen Bestimmungsmethoden

*) Der hohe Variationskoeffizient beruht zum Teil auf der geringen Zahl von Mehrfachbestimmungen

4. Fehlermöglichkeiten

4.1. Methodische Fehler

4.1.1. Auswahl der Probanden

Es ist kaum untersucht, ob und wie Infekte der oberen Luftwege - seien sie noch latent, bereits manifest oder schon im Abklingen - die Proteinkonzentrationen im Speichel verändern.

Kinder mit akuten und chronischen Infektionen ließen sich klinisch gut ausschließen, nicht jedoch solche mit latenten Erkrankungen.

4.1.2. Tageszeitliche Schwankungen der Eiweißkonzentration

Von einer erwachsenen Versuchsperson wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen zunächst ohne Stimulation

und dann 15 min später mit Stimulation (30 mg Ascorbinsäure) mehrfach Speichelp Proben gewonnen. Die Zeitpunkte der Probengewinnung und der dazwischenliegenden Mahlzeiten (Pfeile) gehen aus den Abszissen der Abbildungen 1 und 2 hervor.

Analog zu den Ergebnissen von DAWES (12) konnte kein circadianer Rhythmus bei den Proteinkonzentrationen festgestellt werden. Auch eine konstant nachweisbare prä- oder postprandiale Konzentrationsänderung wurde nicht gefunden.

4.1.3. Stimulation

Während FERGUSON und Mitarbeiter (18) durch Stimulation hervorgerufene qualitative und quantitative Veränderungen der Speichereiweiße beschrieben, stellten RAUCH (40) sowie MANDEL und Mitarbeiter (29) fest, daß das Sekretvolumen beim Einzelnen keinen nennenswerten Einfluß auf die Proteinkonzentration hat. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch SCHMIDT und Mitarbeiter (43) in bezug auf das Gesamteiweiß, wobei sie darauf hinweisen, daß es beim Albumin zu einem Konzentrationsanstieg nach der Stimulation kam.

EICHNER und Mitarbeiter (15) stellten in einer neueren Arbeit fest, daß die Eiweißkonzentration im Speichel bei den verschiedenen Proben eines Individuums stark von der jeweiligen Sekretionsrate und damit auch von der Stimulation abhängt, daß aber die absolute Eiweißausscheidung, gemessen z. B. in mg Protein/min, ziemlich

konstant für jeden Menschen, ja sogar für jede der beiden Parotiden ist.

SMITH und Mitarbeiter (48) untersuchten die Färbemuster in der Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese vom Speichel von Zwillingen und anderen Geschwistern und kamen dabei zu dem Ergebnis, daß die individuelle Variabilität der Speichelproteine in der Hauptsache genetisch bedingt sei.

Die genannten Arbeiten bezogen sich ausnahmslos auf reines Parotissekret.

Eigene Stimulationsversuche (30 mg Ascorbinsäure) mit kompletter Speichelflüssigkeit (Abb. 1 und 2) ergaben beim 11S - Ig A meist einen deutlichen, aber statistisch nicht signifikanten Abfall der Konzentration nach Stimulation.

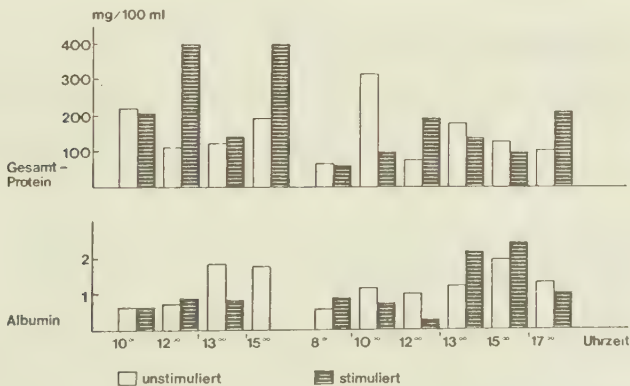


Abb. 1: Gesamteiweiß- und Albuminkonzentration unstimuliert und stimuliert zu verschiedenen Tageszeiten bei einer gesunden Versuchsperson

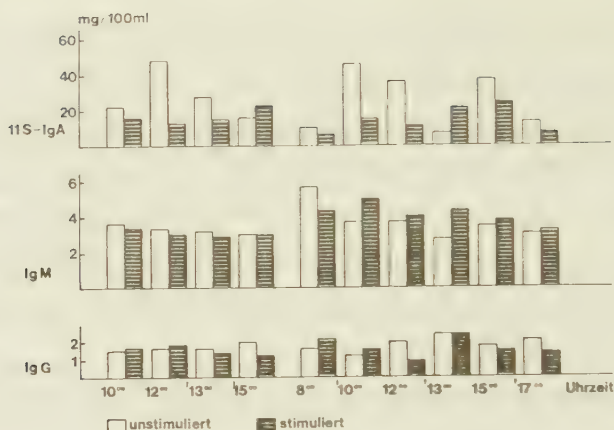


Abb. 2: Immunglobulinkonzentrationen unstimuliert und stimuliert zu verschiedenen Tageszeiten bei einer gesunden Versuchsperson

Die übrigen Parameter (Albumin, Gesamteiweiß, Ig G und M) verhielten sich unterschiedlich. Zur Signifikanzprüfung wurde der t-Test für verbundene Stichproben verwendet.

4.1.4. Schleimbestandteile

Wie erwähnt wurden Proben mit geringen Schleimbeimengungen nicht verworfen, da die Arbeit auf Bestimmung von Proteinkonzentrationen in nativem Speichel abzielt.

4.1.5. Aufbewahrungstemperatur

Nach SCHMIDT und Mitarbeitern (43) hat das sofortige Einfrieren und spätere Auftauen der Proben keinen wesentlichen Einfluß auf die Eiweißkonzentration. Dagegen muß streng darauf geachtet werden, daß die Analysen rasch

erfolgen, da es bei Zimmertemperatur sehr schnell zu einer Zersetzung der Proteine kommt. Die Autoren geben an, daß nach vierundzwanzigstündigem Stehenlassen bei 23 bis 25 Grad Celsius die Gesamteiweißkonzentration auf ca. 25 % des Ausgangswertes abfiel. Eine Blockierung der Speichelenzyme, z. B. des Kathepsins, durch Uranylacetat u. a. gelang ihnen nicht.

4.1.6. Zahntaschenflüssigkeit (= crevicular fluid = gingival fluid)

Durch die beschriebene Sammelmethode gelangte auch Zahntaschenflüssigkeit in die Proben und beeinflusste damit die Ergebnisse.

TOMASI (54) führt diese crevicular fluid unter den sogenannten "internal secretions" auf, die in bezug auf die Immunglobuline ähnlich zusammengesetzt sind wie das Serum, d.h. einen überwiegenden Anteil an Ig G besitzen. Außerdem scheint die Zahntaschenflüssigkeit mit ihrem sehr hohen Gehalt an Albumin die Hauptquelle des oralen Albumins zu sein (38).

4.2. Fehler bei der Bestimmung der Proteinkonzentrationen Vergleiche Tabelle 9.

IV. Eigene Ergebnisse

Eine Zusammenfassung aller Untersuchungsergebnisse ist der Tabelle 10 und den Abbildungen 3 bis 5 zu entnehmen.

Zur Darstellung der Variationsbreite innerhalb der Gruppen wurde nicht die Standardabweichung angegeben, sondern der jeweils niedrigste und höchste Wert (range). Zu den Abbildungen ist anzumerken, daß die Linien nicht eine fortlaufende Altersentwicklung darstellen sollen, sondern nur die Verbindung zwischen den Gruppenmittelwerten herstellen. Diese sind jeweils in der Mitte zwischen den eingezeichneten Altersgrenzen der Gruppen eingetragen.

Gruppe	I (n = 12) $\bar{x}$ R N	II (n = 8) $\bar{x}$ R N	III (n = 15) $\bar{x}$ R N	IV (n = 10) $\bar{x}$ R N	V (n = 13) $\bar{x}$ R N	VI (n = 10) $\bar{x}$ R N
Gesamt-Eiweiß	17,0 55,0 110,4 -	29,3 47,3 115,2 -	22,9 30,0 115,2 -	21,4 30,2 115,2 -	55,3 120,3 128,6 -	93,9 153,9 196,7 -
Albumin	0,0 2,7 9,8 2	0,0 2,4 11,2 1	0,0 2,3 11,5 2	0,0 1,0 1,9 1	1,5 10,1 28,0 -	1,2 3,9 9,4 -
HS Ig A	0,0 0,8 2,2 7	1,1 7,3 23,5 -	0,8 1,3 8,2 -	1,0 5,0 8,4 -	12,2 30,3 45,3 -	4,3 11,7 19,9 -
Ig G	0,5 2,3 7,0 -	0,8 1,3 8,6 -	0,0 1,0 2,1 6	0,0 1,0 2,3 3	0,8 4,0 15,5 -	0,6 1,8 3,6 -
Ig M	0,6 2,9 8,3 -	0,6 1,7 3,9 -	0,7 1,7 4,0 -	0,0 1,5 3,6 1	0,4 1,3 4,0 -	0,7 1,8 4,0 -
Gesamt-Immunoglobulin	2,4 6,0 10,8 -	5,8 11,5 28,1 -	2,7 6,0 12,0 -	4,6 7,5 12,0 -	13,8 36,2 64,1 -	7,3 15,3 23,1 -

Tab. 10: Zusammenfassung der Ergebnisse
(Angaben in mg/100 ml)
(n = Zahl der untersuchten Probanden)
 $\bar{x}$ = Mittelwert
R = niedrigster und höchster Wert
N = Zahl der als unbestimmbar klein gemessenen Werte (mit 0,0 in die Rechnungen aufgenommen)

1. Gesamtproteinkonzentration (Abb. 3)

Insgesamt ist eine Zunahme der Konzentration mit dem Alter zu verzeichnen.

Der geringe Abfall des Mittelwertes von Gruppe IV gegenüber Gruppe III, besonders aber von Gruppe II gegenüber Gruppe I könnte auf jeweils höheren Sekretionsraten und damit auf Verdünnung beruhen, da beobachtet wurde, daß Neugeborene geringere Speichelmengen pro Zeiteinheit produzierten als etwas ältere Kinder.

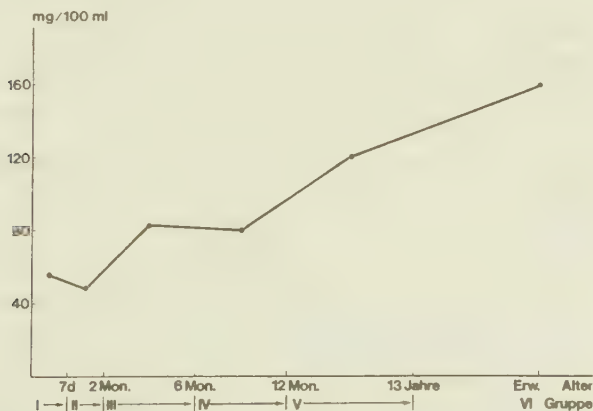


Abb. 3: Altersentwicklung der Gesamtproteinkonzentration

Der Kurvenverlauf zeigt weiterhin, daß der Erwachsenenwert nach dem ersten Lebensjahr erreicht wird.

2. Albumin (Abb. 4)

Nachdem bis zum 12. Monat die Albuminkonzentration auf etwa ein Drittel des Neugeborenenwertes (2,7 mg/100 ml) abgefallen ist, steigt sie nach diesem Alter steil an, um in der Gruppe V fast das Vierfache des Ausgangswertes zu erreichen. Die Konzentration bei den Erwachsenen liegt mit 3,9 mg/100 ml deutlich niedriger. Auf diese Eigenart des Kurvenverlaufs wird im Rahmen der Diskussion (siehe Punkt V) noch näher einzugehen sein.

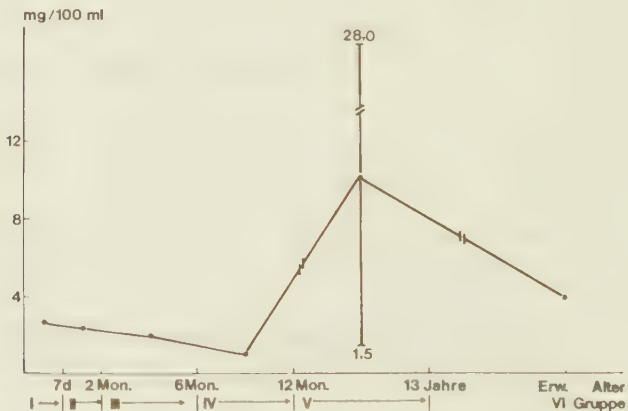


Abb. 4: Altersentwicklung der Albuminkonzentration

Während SELNER und Mitarbeiter (45) berichteten, daß bei Neugeborenen und Säuglingen nur zwischen dem ersten und neunten Lebenstag Albumin im Speichel nachweisbar

sei, weist Tabelle 10 aus, daß es bei allen Altersgruppen vorkommt, allerdings sechs von 45 Kindern unter einem Jahr keines hatten. Die Beimengung von Zahntaschenflüssigkeit (siehe Punkt 4.1.6.) könnte diesen scheinbaren Widerspruch erklären.

3. 11S - Ig A (Abb. 5)

Während HAWORTH und Mitarbeiter (20) feststellten, daß keines von 18 untersuchten Kindern vor dem 12. Geburtstag Ig A im Speichel (und im Serum) hatten, konnte in der vorliegenden Arbeit bei fünf von 12 Neugeborenen bereits vor dem siebten Tag sekretorisches Ig A gefunden werden. Der Verlauf der Kurve in Abbildung 5 zeigt aber deutlich, daß in der Neugeborenenperiode das 11S - Ig A nicht den Hauptanteil der Antikörper ausmacht.

Nach einem kleinen Gipfel (Gruppe II) beginnt die Kurve wieder von einem niedrigeren Niveau aus zu steigen, um schließlich in Gruppe V ihren höchsten Wert zu erreichen. Der Wert der Erwachsenen liegt nur wenig höher als derjenige der Gruppe II.

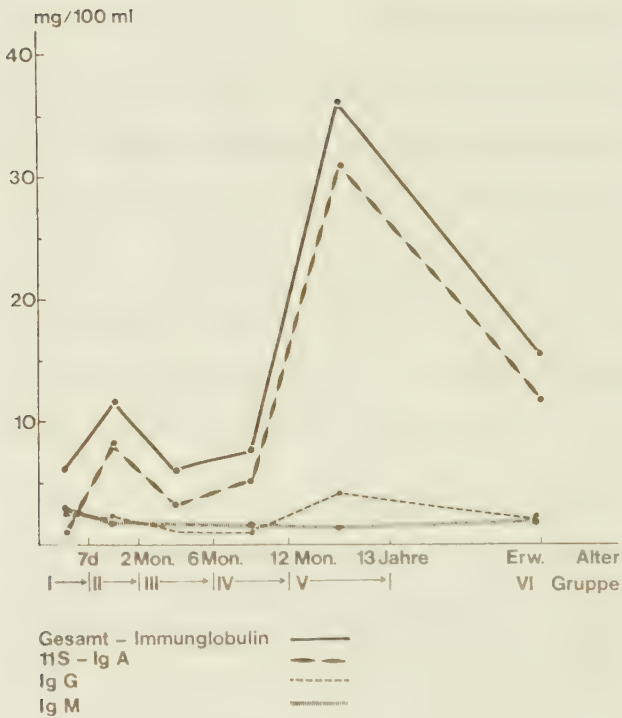


Abb. 5: Altersentwicklung der Immunglobulinkonzentrationen

4. Immunglobulin G (Abb. 5)

In der Neugeborenenzeit hat seine Konzentration einen deutlich höheren Wert als die des 11S - Ig A. Bis zum 12. Monat nimmt es ab. Gerade in der Gruppe III (Alter zwischen zwei und sechs Monaten) war im Speichel von sechs von 15 Kindern kein Ig G zu finden. Bei der Gruppe IV (Alter: 6 - 12 Monate) traf dies auf drei von zehn Probanden zu.

Allerdings konnte die Beobachtung von SELNER und Mitarbeitern (45) nicht wiederholt werden, die berichteten, daß Ig G nur zwischen dem ersten und neunten Lebenstag im Speichel zu finden sei. Auch hier könnte die Beimengung von crevicular fluid (siehe Punkt 4.1.6.) als Erklärung dienen.

Nach dem kontinuierlichen Konzentrationsabfall im ersten Lebensjahr zeigt sich auch beim Ig G, wie schon beim Albumin und beim Ig A bemerkt, ein deutlich höherer Wert in der Gruppe V. Der Erwachsenenwert liegt wiederum etwas tiefer.

5. Immunglobulin M (Abb. 5)

Das Ig M, in der Neugeborenenperiode mit 2,9 mg/100 ml der überwiegende Bestandteil der noch geringen lokalen Immunität, fällt zur Gruppe II hin und bleibt auf diesem niedrigen Niveau stehen. Es macht als einziges Immunglobulin den steilen Anstieg im Kleinkind- und Schulalter nicht mit.

6. Gesamt-Immunglobulinkonzentration (Abb. 5)

Während in den ersten sieben Lebenstagen die lokale Abwehr von Ig M und G getragen wird, spiegelt die Kurve der Gesamt-Immunglobulinkonzentration im späteren Leben fast völlig die Altersverteilung des 11S - Ig A wider, was gut mit der vorliegenden Literatur (9, 53) übereinstimmt.

7. Prozentuale Aufteilung der Immunglobuline
(Abb. 6, Tab. 11)

Was anhand der Einzelkurven (Abb. 3 bis 5) abgeschätzt werden konnte, ist der Abb. 6 bzw. der Tab. 11 mit genauen Angaben zu entnehmen. Auch hier ist die individuelle Variabilität durch Angabe des höchsten und niedrigsten Wertes dargestellt (range).

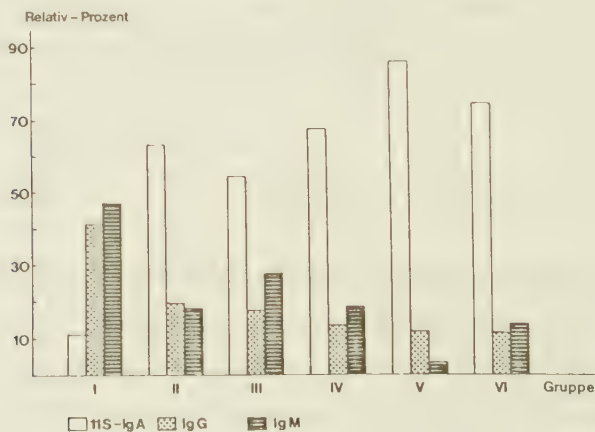


Abb. 6: Prozentuale Aufteilung der Immunglobuline

Gruppe	I (n = 12)		II (n = 8)		III (n = 15)		IV (n = 10)		V (n = 13)		VI (n = 18)	
	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R
11S - Ig A	11,3	0,0 43,7	63,2	23,6 82,7	54,5	17,4 91,3	67,6	20,0 100,0	86,4	70,6 94,8	74,5	59,1 87,5
Ig G	41,5	11,5 85,5	19,6	8,8 37,8	17,9	0,0 59,7	13,6	0,0 33,6	10,2	3,3 24,2	11,6	5,7 23,8
Ig M	47,2	14,5 88,5	18,2	4,6 44,8	27,6	8,7 50,5	18,8	0,0 48,1	3,4	0,8 8,2	13,9	4,0 35,2

Tab. 11: Prozentuale Aufteilung der Immunglobuline
(Angaben in Relativ-Prozent)
(n = Zahl der untersuchten Probanden)
 $\bar{x}$ = Mittelwert
R = Range = niedrigster und höchster Wert)

8. Prozentuale Aufteilung der Speichelproteine

Eine graphische Darstellung gibt die Abb. 7.

Die genauen Werte sind der Tabelle 12 zu entnehmen.

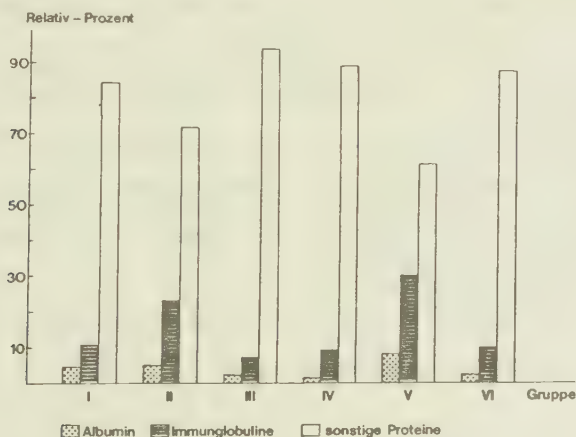


Abb. 7: Prozentuale Aufteilung der Proteine

Gruppe	I (n = 12)	II (n = 8)	III (n = 15)	IV (n = 10)	V (n = 13)	VI (n = 18)
Albumin	4,8	5,1	2,4	1,3	8,4	2,4
Gesamt- Immunglobuline	10,8	23,2	7,2	9,4	30,1	9,8
Sonstige Speichelproteine	84,4	71,7	90,4	89,3	61,5	87,8

Tab. 12: Prozentuale Aufteilung der Proteine
(Angaben in Relativ-Prozent)
(n = Zahl der untersuchten Probanden)

Der Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamteiweiß variiert beträchtlich im Laufe der kindlichen Entwicklung.

So steigt das Gesamt-Immunglobulin von Gruppe I auf Gruppe II um 92 %, während das Gesamteiweiß leicht abfällt. Dies geht vor allem auf Kosten des Albumins und anderer Speichelbestandteile, wie z. B. Enzymproteine, die im gleichen Zeitraum um 11 bzw. 27 % fallen (Tab. 13). In der Gruppe III wird dieses Ungleichgewicht wieder mehr als wettgemacht, da bei steigendem Gesamteiweiß die Konzentration von Albumin und Gesamt-Immunglobulin abnimmt, die der übrigen Speichelproteine steigt.

Gruppe IV hat in etwa die gleiche prozentuale Zusammensetzung wie die Gruppe III.

	I mg %	II mg %	Diff. mg %	Diff. rel.-%	II mg %	III mg %	Diff. mg %	Diff. rel.-%	III mg %	IV mg %	Diff. mg %	Diff. rel.-%
Gesamt-Eiweiß	55,6	47,9	+ 17,7	- 32	47,9	82,9	+ 35,0	+ 73	82,9	80,0	- 2,9	- 4
Gesamt-Immunglob.	6,0	11,5	+ 5,5	+ 92	11,5	6,0	+ 5,5	- 48	6,0	7,5	+ 1,5	+ 25
Albumin	2,7	2,4	- 0,3	- 11	2,4	2,0	- 0,4	- 17	2,0	1,0	- 1,0	- 50
Sonstige Proteine	46,9	34,0	- 12,9	- 27	34,0	74,9	- 40,9	+ 120	74,9	71,5	- 3,4	- 5

	IV mg %	V mg %	Diff. mg %	Diff. rel.-%	V mg %	VI mg %	Diff. mg %	Diff. rel.-%
Gesamt-Eiweiß	80,0	120,3	+ 40,3	+ 50	120,3	159,9	+ 39,6	+ 33
Gesamt-Immunglob.	7,5	36,2	+ 28,7	+ 383	36,2	15,3	- 20,9	+ 58
Albumin	1,0	10,1	+ 9,1	+ 910	10,1	3,9	- 6,2	- 6,1
Sonstige Proteine	71,5	74,0	+ 3,5	+ 5	74,0	140,6	+ 66,6	+ 90

Tab. 13: Entwicklung der Eiweißfraktionen von einer Altersgruppe zur nächsten

Die weitere Entwicklung (von Gruppe IV zur Gruppe V) ist gekennzeichnet von einer Zunahme des Gesamteiweiß um 40,3 mg/100 ml, wofür vor allem Albumin und Immunglobuline verantwortlich sind.

Anders bei der Entwicklung vom Kleinkind- und Schulalter (Gruppe V) zum Erwachsenenalter (Gruppe VI): Hier fallen Immunglobuline und Albumin, während die übrigen Proteine ansteigen.

V. Diskussion

Der Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Angaben anderer Autoren ist etwas schwierig, da kaum Arbeiten über Proteinkonzentrationen im Vollspeichel vorliegen.

Beim Gesamteiweiß bestehen weder bei Kindern noch bei Erwachsenen wesentliche Unterschiede zwischen Parotissekret und Vollspeichel.

Für das Albumin macht lediglich NAKAJIMA (34) (Tabelle Seite 5) vergleichbare Angaben. Seine Werte stimmen gut mit den Ergebnissen dieser Arbeit überein. Die Beimengung von Zahntaschenflüssigkeit zu den Proben erklärt einerseits die im Vollspeichel gegenüber dem Parotissekret höhere Albuminkonzentration, andererseits auch, daß Albumin und Ig G entgegen der Aussage von SELNER und Mitarbeitern (45) bei Kindern aller Altersstufen gefunden wurden.

Aus der Literatur sind kaum Angaben über Ig M - Konzentrationen in oralen Sekreten zu erhalten: Bei den wenigen quantitativen Untersuchungen (5) wurde über ähnliche Werte wie in der vorliegenden Arbeit berichtet. Beim sekretorischen Ig A sind nur die Werte von HAWORTH und Mitarbeitern (21) (Tab. 4, Seite 10) mit den eigenen Ergebnissen der Gruppe V zu vergleichen. Dabei besteht eine deutliche Diskrepanz: die Autoren geben wesentlich niedrigere Konzentrationen an.

Unterschiedliche Bestimmungsmethoden scheinen dabei keine wesentliche Rolle zu spielen, da die Angaben für Kinder unter zwei Jahren gut übereinstimmen. Die Erklärung dafür muß man daher wohl im Rahmen des erwähnten starken Anstieges des Proteingehalts bei der Gruppe V suchen (siehe unten).

Auch beim sekretorischen Ig A liegen bei Kindern und Erwachsenen die Konzentrationen im Parotisspeichel niedriger als im Vollspeichel, was durch das Sekret der "minor salivary glands" bedingt sein dürfte, da dieses viel mehr Ig A enthält als das Parotissekret. Das erklärt allerdings nicht, daß in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zur Beobachtung von HAWORTH und Mitarbeitern (21) Ig A bereits am dritten Lebenstag im Speichel von Neugeborenen gefunden wurde, da die Probengewinnung mit der gleichen Methodik durchgeführt wurde. Hierbei dürfte wohl die Empfindlichkeit der Bestimmungstechnik, d.h. der Meßbereich bei niedrigen Konzentrationen eine Rolle spielen. Besonders bemerkenswert erscheint weiterhin die starke Konzentrationszunahme von Albumin, Ig A und G im Kleinkind- und Schulalter (Gruppe V) mit dem anschließenden Abfall zum Erwachsenenwert hin. Entsprechende Beobachtungen sind aus der Literatur nicht bekannt. Ob Änderungen in der Sekretionsrate oder auch andere Faktoren (z. B. hormoneller Art) für die sehr hohe individuelle Streuung der Werte verantwortlich sind, läßt sich ohne detaillierte Untersuchung nicht sagen.

VI. Zusammenfassung

Nach Stimulation der Speichelsekretion mit Ascorbinsäure wurden von 58 Kindern im Alter von 12 Stunden bis zu 13 Jahren sowie von 18 Erwachsenen mit einem mullumwickelten Wattebausch, der in die Mundhöhle eingebracht wird, Proben der gemischten oralen Sekrete gewonnen. Alle Probanden waren klinisch gesund.

Wir bestimmten die Konzentrationen von Gesamteiweiß (32), Albumin, sekretorischem 11S - Ig A, Ig G und Ig M (28). Die Variationskoeffizienten der einzelnen Bestimmungsmethoden lagen zwischen 2,4 % (Ig G) und 6,6 % (Albumin).

Zur Klärung der Frage, ob Stimulation und Zeitpunkt der Sekretabnahme einen Einfluß auf die Proteinkonzentrationen ausüben, führten wir einen Vorversuch durch: Von einer erwachsenen Versuchsperson wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen zunächst ohne Stimulation und dann 15 min später nach Gabe von 30 mg Ascorbinsäure mehrfach Speichelproben gewonnen. Es konnte dabei kein circadianer Rhythmus bei den Eiweißkonzentrationen gefunden werden, was mit den Ergebnissen der Literatur (12) übereinstimmt. Die Stimulation ergab beim 11S - Ig A meist einen deutlichen, aber statistisch nicht signifikanten Abfall der Konzentration.

Die übrigen Parameter (Albumin, Gesamteiweiß, Ig G und M) verhielten sich unterschiedlich. Die Signifikanzprüfung geschah mit dem t-Test für verbundene Stichproben.

Die Konzentration des GESAMTEIWEISS zeigt einen deutlichen Anstieg vom Neugeborenen- zum Erwachsenenalter, wobei die Durchschnittswerte von 55,6 auf 159,9 mg/100 ml stiegen.

Der durchschnittliche ALBUMINGEHALT des Speichels sinkt im Laufe des ersten Lebensjahres von 2,7 auf 1,0 mg/100 ml ab.

Bei den Klein- und Schulkindern liegt er mit 10,1 mg/100 ml wesentlich höher. Dabei ist eine erhebliche individuelle Schwankungsbreite auffällig.

Im Gegensatz zu anderen Untersuchern (21) fanden wir SEKRETORISCHES 11 S - IGA bei fünf von zwölf Neugeborenen schon vor dem siebten Lebenstag. Bereits ab der Altersgruppe II (älter als sieben Tage aber jünger als zwei Monate) stellt es das vorherrschende Immunglobulin dar.

Auch beim IG A konnten wir bei den Klein- und Schulkindern sehr hohe Werte mit starker Streuung feststellen.

IMMUNGLOBULIN G ist in der Neugeborenenperiode mit 2,3 mg/100 ml stärker im Speichel vertreten als das sekretorische Ig A. Dies ist verständlich, da der Fetus nur Ig G diaplazentar von der Mutter erhält (44), und nur dieses die Speicheldrüsenmembran durch Transsudation überwinden kann (52). Seine Konzentration im Speichel nimmt bis zum 12. Lebensmonat stetig ab. In den Gruppen III und IV war es bei neun von 25 Probanden nicht nachweisbar.

Während das IMMUNGLOBULIN M in der Neugeborenenperiode mit 2,9 mg/100 ml das Hauptanteil der noch geringen lokalen Immunität ausmacht, sinkt es wenige Wochen nach der Geburt ab und bleibt auf dem niedrigeren Niveau (1,5 bis 1,8 mg/100 ml). Es weist keinen Gipfel im Kleinkind- und Schulalter auf.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in Übereinstimmung mit den erreichbaren Daten der Literatur, welche im Abschnitt II ausführlich dargestellt sind, lassen darauf schließen, daß die speichelproduzierenden Organe der Mundhöhle im Laufe der Individualentwicklung einen Reifungsprozeß durchmachen.

VII. Literaturverzeichnis

1. BESREDKA, A.:
Ann. Inst. Pasteur 33 (1919) 882
2. BIENENSTOCK, J.; TOMASI, T.B. Jr.:
Secretory gamma-A in normal urine
J. Clin. Invest. 47 (1968) 1162
3. BIENENSTOCK, J.; PEREY, Y.E.:
Immune mechanisms of mucosal resistance
Med. Clin. N. Amer. 56 (1972) 391
4. BRANDTZAEG, P.; FJELLANGER, I.;
GJERULDSSEN, S.T.:
Immunoglobulin M: Local synthesis and
selective secretion in patients with
immunoglobulin A deficiency
Science 160 (1968) 789
5. BRANDTZAEG, P.:
Human secretory immunoglobulins:
II. Salivary secretions from individuals
with selectively excessive or defective
synthesis of serum immunoglobulins
Clin. exp. Imm. 8 (1971) 69
6. BRANDTZAEG, P.:
Binding of secretory component to immuno-
globulins and immunocytes
Scand. J. Immun. 2 (1973) 441
7. BRANDTZAEG, P.:
Human secretory immunoglobulin M:
An immunochemical and immunohisto-
chemical study
Immunology 29 (1975) 559

8. BURGER-GIRARD, N.:
Etude immunologique des protéines de la
salive normale et de mucoviscidose
Schweiz. Med. Wschr. 94 (1964) 23
9. CLAMAN, H.N.; MERRILL, D.A.; HARTLEY, T.F.:
Salivary immunoglobulins: Normal adult
values and dissociation between serum
and salivary levels
J. Allergy 40 (1967) 151
10. CRAWFORD, J.M.; TAUBMANN, M.A.; SMITH, D.J.:
Minor salivary glands as a major source
of secretory immunoglobulin A in human
oral cavity
Science 190 (1975) 1206
11. CURBY, W.A.:
Device for collection of human parotid
saliva
J. Lab. Clin. Med. 41 (1953) 493
12. DAWES, C.:
Circadian-rhythms in the flow-rate and
composition of unstimulated and stimulated
human submandibular saliva
J. Physiol. 244 (1975) 535
13. DENNIG, H. (Hrsg.):
Lehrbuch der Inneren Medizin
Bd. II, S. 5, Thieme Verlag, Stuttgart,
8. Auflage, 1969
14. EICHNER, H.; MÜNDEL, M.; BRETZEL, G.:
Vergleichende Untersuchungen von Flußraten,
Elektrolyt- und Gesamteiweißkonzentrationen
und diskelektrophoretische Auftrennung des
Sekrets an fraktioniert gewonnenem mensch-
lichen Parotissekret
Z. Laryng. Rhinol. 54 (1975) 19

15. EICHNER, H.; EICHNER, V.; MÜNZEL, M.;
HOCHSTRASSER, K.:

Simultanbestimmungen von Lysozym- und Immunglobulin-A-Gehalt von menschlichem Parotisssekret im Vergleich zu Flußraten und Gesamtproteinausscheidung bei fraktionierter Ruhe- und Reizabnahme
Z. Laryng. Rhinol. 54 (1975) 554

16. ESKELAND, T.; BRANDTZAEG, P.:

Does J chain mediate the combination of 19S - Ig M and dimeric Ig A with the secretory component rather than being necessary for their polymerization?
Immunochem. 11 (1974) 161

17. FAZEKAS DE ST. GROTH; DONNELLEY, M.:

Studies in experimental immunology of influenza; III. Antibody response
Austr. J. Exper. Biol. Med. Sc. 28 (1950) 45

18. FERGUSON, M.H.; KRAHN, H.P.; HILDES, J.A.:

Parotid secretion of protein in man
Can. J. Bioch. Phys. 36 (1958) 1001

19. FÜHR, J.; HINZ, O.S.:

Eine einfache kolorimetrische Methode zur Liquoreiweißbestimmung
Klin. Wschr. 31 (1951) 153

20. HALPERN, M.S.; KOSHLAND, M.E.:

Novel subunit in secretory Ig A
Nature 228 (1970) 1276

21. HAWORTH, J.C.; DILLING, L.:

Concentration of gamma-A-globulin in serum, saliva, and nasopharyngeal secretions of infants and children
J. Lab. Clin. Med. 67 (1966) 922

22. HOCHWALD, G.M.; JACOBSON, E.B.;
THORBECKE, G.J.:
C¹⁴ amino acid incorporation into transferrin
and 2A globulin by ectodermal glands in vitro
Fed. Proc. 23 (1964) 557
23. HURLIMANN, J.; ZUBER, C.:
In vitro protein synthesis by human salivary
glands. I. Synthesis of salivary Ig A and
serum proteins
Immun. 14 (1968) 809
24. LINDH, E.:
Increased resistance of immunoglobulin A
dimers to proteolytic degradation after
binding to secretory component
J. Immun. 114 (1975) 284
25. LINDH, E.; BJORK, J.:
Binding of secretory component to dimers
of immunoglobulin A in vitro - mechanism
of covalent bond formation
Eur. J. Bioch. 62 (1976) 263
26. LINDH, E.; BJORK, J.:
Binding of secretory component to human
immunoglobulin M
Eur. J. Bioch. 62 (1976) 271
27. MACH, J.-P.:
In vitro combination of human and bovine
free secretory piece with Ig A of
various species
Nature 228 (1970) 1278
28. MANCINI, G.; CARBONARA, A.O.; HEREMANS, J.F.:
Immunochemical quantitation of antigens
by single radial immunodiffusion
Immunochem. 2 (1965) 235

29. MANDEL, J.D.; THOMPSON, R.H.;
ELLISON, S.A.:
Studies on the mucoproteins of human
parotid saliva
Arch. Oral Biol. 10 (1965) 499
30. MANDEL, J.D.; MANDEL, L.; BAURMASH, H.:
Salivary studies in parotitis
48. Intern. Ass. Dent. Res. 1969
31. MESTECKY, J.; ZIKAN, J.; BUTLER, W.T.;
KULHAVY, R.:
Studies on human secretory immunoglobulin A.
III. J chain
Immunochem. 9 (1972) 883
32. MEYER, P.; VOGT, K.; ZIPPEL, R.:
Zur Bestimmung von Gesamteiweiß im Speichel
Z. Laryng. Rhinol. 46 (1967) 905
33. MEYER, P.; SCHNEIDER, D.:
Der Albumingehalt des Parotisspeichels
unter Berücksichtigung des Lebensalters
Z. Laryng. Rhinol. 54 (1975) 551
34. NAKAJIMA, S.; GILLESPI, D.N.; GLEICH, G.J.:
Differences between Ig A and Ig E as
secretory proteins
Clin. Exp. Immun. 21 (1975) 306
35. O'DALY, J.A.; CEBRA, J.J.:
Cellular localization of rabbit secretory
gamma A
In: Peeters, H. (ed.): 16 th Colloquium
of the Biological Fluids
(Bruges, Belgium)
Pergamon Press, London, 1968

36. OUCHTERLONY, O.:
Diffusion-in-gel methods for immunological analysis I
Progr. Allergy 5 (1958) 1
37. OUCHTERLONY, O.:
Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II
Progr. Allergy 6 (1962) 30
38. OPPENHEIM, F.G.:
Preliminary observations of the presence and origin of serum albumin in human saliva
Helv. Odont. Acta 14 (1970) 10
39. PORTER, R.:
Gammaglobulin and antibodies
In: Putnam, F. (ed.): Plasma proteins, vol. I,
Acad. Press, New York, 1960
40. RAUCH, S.:
Die Speicheldrüsen des Menschen
Thieme Verlag, Stuttgart, 1959
41. ROSSEN, R.D.; MORGAN, C.; HSU, K.C.; BUTLER, W.T.; ROSE, H.M.:
Localization of 11S external secretory Ig A by immunofluorescence in tissues lining the oral and respiratory passages in man
J. Immun. 100 (1968) 706
42. SCHLIMOK, G.:
Vergleichende immunchemische Proteinuntersuchungen in Seren und Tracheobronchialsekreten bei Kindern unter besonderer Berücksichtigung des Immunglobulin A
Inaug. Diss., München 1976

43. SCHMIDT, G.-W.; EULER, W.:
Qualitative und quantitative Untersuchungen
der Gesamteiweiße und ihrer Fraktionen im
Speichel des Kindes
Fortschr. Med. 88 (1970) 800
44. SCHULTZE, H.E.; HEREMANS, J.F.:
Molecular biology of human proteins,
vol. I, p. 591
Elsevier Publishing Co., London, 1966
45. SELNER, J.C.; MERRILL, D.A.; CLAMAN, H.N.:
Salivary immunoglobulin and albumin:
Development during the newborn period
J. Pediatr. 72 (1968) 685
46. SHURK, A.; MLYNSKI, G.; FENDEL, K.:
Methoden der quantitativen Eiweißbestimmung
im menschlichen Parotisspeichel
Acta Otorhinolaryng. 71 (1971) 71
47. SIMONS, K.; WEBER, T.; STIEL, M.;
GRÄSBECK, R.:
Immuno-electrophoresis of human saliva
Acta Med. Scand. 412 (1964) 257
48. SMITH, Q.T.; SHAPIRO, B.L.; HAMILTON, M.J.:
Polyacrylamide gel electrophoresis of
twin and nontwin parotid salivary proteins
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 151 (1976) 535
49. SOUTH, M.A.; COOPER, M.D.; WOLLHEIM, F.A.;
HONG, R.; GOOD, R.A.:
The Ig A system: I. Studies of the trans-
port and immunochemistry of Ig A in the
saliva
J. Exp. Med. 123 (1966) 615

50. SOUTH, M.A.; WARWICK, W.J.; WOLLHEIM, F.A.;
GOOD, R.A.:

The Ig A system: III. Ig A levels in the
serum and saliva of pediatric patients -
evidence for a local immunological system
J. Pediatr. 71 (1967) 645

51. THOMPSON, R.A.:

Secretory piece linked to Ig M in individuals
deficient in Ig A
Nature 226 (1970) 946

52. TOMASI, T.B. Jr.; TAN, E.M.; SOLOMON, A.;
PRENDERGAST, R.A.:

Characteristics of an immune system common
to certain external secretions
J. Exp. Med. 121 (1965) 101

53. TOMASI, T.B. Jr.; BIENENSTOCK, J.:

Secretory immunoglobulins
Adv. Immun. 9 (1968) 1

54. TOMASI, T.B. Jr.:

Secretory immunoglobulins
N. Eng. J. Med. 287 (1972) 500

55. TOMASI, T.B. Jr.:

Production of a noncovalently bonded
pentamer immunoglobulin M: relationship
to J chain
Proc. Nat. Acad. Sc. 70 (1973) 3410

56. TOURVILLE, D.R.; ADLER, R.H.; BIENENSTOCK, J.;
TOMASI, T.B. Jr.:

The human secretory immunoglobulin system:
Immunohistological localization of gamma A,
secretory "piece", and lactoferrin in
normal human tissue
J. Exp. Med. 129 (1969) 411

57. TYMPNER, K.-D.; SCHLIMOK, G.; ROTH, H.:
Agammaglobulinämie und sekretorisches
Ig A
Klin. Pädiat. 189 (1977) 269
58. WASHBURN, T.C.:
A longitudinal study of serum immuno-
globulins of newborn premature infants
Bull. John Hopk. Hosp. 118 (1966) 40
59. WEICKER, J.; UNDERDOW, B.J.:
Study of association of human secretory
component with Ig A and Ig M proteins
J. Immun. 114 (1975) 1337
60. WOLF, R.O.; TAYLOR, L.L.:
A comparative study of saliva protein analysis
Arch. Oral Biol. 9 (1964) 135
61. ZENGO, A.N.; MANDEL, J.D.; GOLDMAN, R.;
KHURANA, H.S.:
Salivary studies in human caries resistance
Arch. Oral Biol. 16 (1971) 557

Siegfried Dörfler
Innhöhe 11
8090 Wasserburg/Inn

Lebenslauf

16. 7. 52	Geburt in Leiten, Kreis Wasserburg/Inn <u>Vater:</u> Harald Dörfler (Installateur) <u>Mutter:</u> Therese Dörfler (Angestellte)
1958	Eintritt in die Volksschule Albaching
1962	Übersiedlung nach Wasserburg/Inn Eintritt in das dortige Luitpold-Gymnasium (neusprachlicher Zweig)
1971	A b i t u r
1971	Übersiedlung nach München Beginn des Studiums der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
April 1978	III. Teil der Ärztlichen Prüfung
Seit 16. 5. 78	Anstellung im Kreiskrankenhaus Wasserburg/Inn

